



UNIVERSITA' DI PISA

Dipartimento di Biologia

**Corso di Laurea magistrale in Biotecnologie Molecolari ed
Industriali**

TESI DI LAUREA

***“Effetti della 3-Iodotironamina (T_1AM) sul
metabolismo energetico e sull’apoptosi”***

Relatori

Prof.ssa Sandra GHELARDONI

Prof. Riccardo ZUCCHI

Candidato

Leonardo LORENZINI

ANNO ACCADEMICO 2012-2013

Indice

Riassunto.....	1
Abstract.....	2
1. T₁AM e tironamine.....	3
1.1. Struttura delle tironamine	4
1.2. Biosintesi della T ₁ AM	4
1.3. Metabolismo della T ₁ AM	6
1.4. Recettori delle tironamine	7
1.5. Trasportatori endogeni della T ₁ AM.....	9
1.6. Concentrazioni endogene della T ₁ AM.....	12
1.7. Effetti della T ₁ AM.....	14
1.7.1. Effetti sulla termogenesi	14
1.7.2. Effetti metabolici.....	14
1.7.3. Effetti endocrini.....	15
1.7.4. Effetti sul sistema nervoso	15
1.7.5. Effetti sul sistema cardiaco	16
1.8. Aspetti non chiariti	18
2. Le sirtuine.....	19
2.1. Attività enzimatica delle sirtuine	20
2.2. Sirtuine e restrizione calorica	21
2.3. La sirtuina 4	22
2.4. La sirtuina 6	25
2.4.1. SIRT6 ed apoptosi.....	27
2.5. Cross talk tra sirtuine	30
3. Scopo della tesi	32
4. Materiali e metodi	33
4.1. Preparazione e conservazione della T ₁ AM.....	33
4.2. Perfusioni del fegato di ratto	33
4.3. Trattamento dei topi	34
4.4. Estratti proteici.....	34
4.4.1. Estrazione proteine totali da tessuto.....	34

4.4.2.	Estrazione proeine totali da cellule	35
4.4.3.	Quantificazione con reagente di Bradford ®	36
4.5.	Western Blot	37
4.5.1.	Elettroforesi e blotting	37
4.5.2.	Immunorivelazione su membrana PVDF	38
4.6.	Real Time PCR.....	38
4.6.1.	Disegno dei primer	38
4.6.2.	Estrazione RNA da tessuto	40
4.6.3.	Estrazione RNA da cellule	40
4.6.4.	Quantificazione, verifica della purezza e dell'integrità dell'RNA.....	41
4.6.5.	Retrotrascrizione & Real Time PCR.....	41
4.7.	Colture cellulari	42
4.7.1.	Cellule e terreni utilizzati	42
4.7.2.	Congelamento.....	43
4.7.3.	Scongelamento	43
4.7.4.	Crystal violet	43
4.7.5.	Produzione di glucosio e corpi chetonici	44
4.7.6.	Rilascio di acidi grassi.....	44
4.8.	Saggi metabolici.....	44
4.8.1.	Dosaggio del glucosio su perfusato	44
4.8.2.	Produzione di glucosio e corpi chetonici	45
4.8.3.	Quantificazione della concentrazione acidi grassi (in Hep G2)	46
5.	Risultati	47
5.1.	Saggi metabolici su cellule Hep G2 e perfusato epatico.....	47
5.2.	Trattamento dei topi spontaneamente obesi	49
5.2.1.	Effetto della T ₁ AM sull'espressione di proteine regolatrici dell'omeostasi del glucosio	49
5.3.	Effetti della T ₁ AM sulla vitalità cellulare	52
5.3.1.	Saggio del Crystal violet	52
5.3.2.	Effetto della T ₁ AM sull'espressione di SIRT4 e SIRT6	53
6.	Discussione	55
7.	Bibliografia	60